



中華民國經濟部智慧財產局

INTELLECTUAL PROPERTY OFFICE
MINISTRY OF ECONOMIC AFFAIRS
REPUBLIC OF CHINA

茲證明所附文件，係本局存檔中原申請案的副本，正確無訛，
其申請資料如下：

This is to certify that annexed is a true copy from the records of this
office of the application as originally filed which is identified hereunder:

申請日：西元 2003 年 06 月 13 日
Application Date

申請案號：092116101
Application No.

申請人：財團法人工業技術研究院
Applicant(s)

局長

Director General

蔡練生

發文日期：西元 2003 年 8 月 21 日
Issue Date

發文字號：09220838910
Serial No.

發明專利說明書

(本說明書格式、順序及粗體字，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)

※ 申請案號：

※ 申請日期：

※IPC 分類：

壹、發明名稱：(中文/英文)

具有抗病毒活性之中草藥萃取物及其製造方法/ An Herbal Extract
Having Anti-Virus Activity and Preparation of Same

貳、申請人：(共 1 人)

姓名或名稱：(中文/英文)

財團法人工業技術研究院/Industrial Technology Research
Institute

代表人：(中文/英文) 翁政義/Cheng-I Weng

住居所或營業所地址：(中文/英文)

新竹縣竹東鎮中興路四段 195 號/ No.195, Sec.4, Chung Hsin Rd.,
Chu Tung Town, Hsin Chu Hsien, Taiwan, R.O.C.

國 籍：(中文/英文) 中華民國/R.O.C.

參、發明人：(共 3 人)

姓 名：(中文/英文)

1. 羅立清/LO, LI-CHING

2. 陳聯泰/CHEN, LIEN TAI

3. 劉馨瑜/LIU, SHIN-YU

住居所地址：(中文/英文)

1. 苗栗縣南庄鄉南江村 4 鄰東江路 50-1 號/No. 50-1, Tungchiang
Road, Nanchuang Shiang, Miaoli County, Taiwan, R.O.C.

2. 桃園縣桃園市中埔里同德 7 街 90 號 3 樓/3F1., No. 90, Tungte 7th

St., Taoyuan County Taoyuan City, Taiwan, R.O.C.

3. 高雄縣鳳山市福興村 38 鄰漁村街 92 巷 6 號/No.6, Lane 92,

Yutsuen St., Fengshan City, Kaohsiung County, Taiwan

國 籍：（中文/英文）

1. 2. 3. 皆中華民國/R.O.C.

肆、聲明事項：

☐ 本案係符合專利法第二十條第一項 ☐ 第一款但書或 ☐ 第二款但書規定之期間，其日期為： 年 月 日。

◎本案申請前已向下列國家（地區）申請專利 ☐ 主張國際優先權：

【格式請依：受理國家（地區）；申請日；申請案號數 順序註記】

- 1.
- 2.
- 3.
- 4.
- 5.

☐ 主張國內優先權（專利法第二十五條之一）：

【格式請依：申請日；申請案號數 順序註記】

- 1.
- 2.

☐ 主張專利法第二十六條微生物：

☐ 國內微生物 【格式請依：寄存機構；日期；號碼 順序註記】

☐ 國外微生物 【格式請依：寄存國名；機構；日期；號碼 順序註記】

☐ 熟習該項技術者易於獲得，不須寄存。

伍、中文發明摘要：

本發明係有關於具有抗病毒活性之中草藥萃取物，特別是以低極性溶劑萃取女貞子、黃精、仙鶴草、熟地黃或其混合物之萃取物，以及該中草药萃取物之製備方法及應用。

陸、英文發明摘要：

The invention relates to the herbal extract having anti-viral activity. More specifically, it relates to the herbal extract produced by extracting the comminuted fruit of *Ligustrum lucidum*, *Polygonatum spp.*, *Agri-monia allosa*, *Rehmannia glutinos* or the mixture thereof, with a low polar solvent, and to the method for in vitro antagonizing virus by contacting the herbal extract with viruses.

柒、指定代表圖：

(一)本案指定代表圖為：第(無)圖。

(二)本代表圖之元件代表符號簡單說明：

無

捌、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：

玖、發明說明：

【發明所屬之技術領域】

本發明係有關於具有抗病毒活性之中草藥萃取物，特別是以低極性溶劑萃取女貞子、黃精、仙鶴草、熟地黃或其混合物之萃取物，以及該中草药萃取物之製備方法及應用。

【先前技術】

病毒依其傳播特性，可能經空氣、口沫或接觸傳染途徑而引發各種疾病。每年夏、秋二季，在台灣造成重大影響之腸病毒感染症，對國人健康確實造成極大之威脅，特別是對於幼童。腸病毒可經由接觸病人的口鼻分泌物、糞便、飛沫等途徑傳染，尤其人群密集處易造成流行。目前對於腸病毒感染，並無特殊之治療方法，醫師大部份均給予對抗症狀之支持性療法；此外，腸病毒種類繁多且具變異性，因此，無法因為曾受感染而對其他類型之病毒產生終身免疫。預防病毒感染之道，即在於常洗手、加強居家環境清潔及室內通風、帶口罩以及避免接觸感染者。

美國專利第 6,214,350 號是有關於女貞 (*Ligustrum lucidum* 及/或 *L. japonicum*) 果實之水溶液萃取物，其製備方法包括將女貞果實與水接觸；分離不溶性成份；將水溶液酸化得到酸沈澱物；以及純化該酸沈澱物之步驟。該專利係揭示將女貞果實之水溶液萃取物用於治療 B 型肝炎病毒 (HBV)、C 型肝炎病毒 (HCV) 以及人類免疫不全病毒 (HIV)。

美國專利第 5,888,527 號是有關於以兒茶素類及紅茶多酚類為活性成份之茶萃取物，該萃取物亦為水溶液萃取物，以用於對抗真菌、細菌及流感病毒。

到目前為止，並無任何公開文獻教示以低極性溶劑萃取女貞果

實，並可將該萃取物用以對抗病毒，特別是小 RNA 病毒科中之腸病毒。此外，由於水是高極性之溶劑，並且由於各種病毒的作用機轉不同以及對於不同藥物具有高度的特異性，因此，並無法由前揭先前技術而推及本發明之構想以及實施。此外，對於以中草藥治療或預防由病毒所引起的疾病或症狀，仍有其需求。

【發明內容】

本發明之主要形態係提供一種具有抗病毒活性之中草藥萃取物，係藉由將包括磨碎的女貞子、黃精、仙鶴草、熟地黃或上述材料之混合物，以至少一種低極性之溶劑萃取而製成。

本發明的另一形態係提供一種製備具有抗病毒活性之中草藥萃取物之方法，係藉由將包括磨碎的女貞子、黃精、仙鶴草、熟地黃或上述材料之混合物，以至少一種低極性之溶劑萃取。

本發明的又一形態係提供一種活體外抗病毒活性之方法，其包括將本發明具有抗病毒活性之中草藥萃取物與病毒接觸，藉此抑制病毒之活性。

在較佳具體實例中，本發明係將具有抗病毒活性之中草藥萃取物作為活體外抗病毒活性之應用。

【實施方式】

在本發明之說明中，女貞子係指木樨科 (*Oleaceae*) 植物女貞 (*Ligustrum lucidum* Ait.) 之果實；黃精係指百合科 (*Liliaceae*) 多年生草本植物，包括黃精 (*Polygonatum sibiricum* Red)、滇黃精 (*P. kingianum* Coll. et Hemsl) 或多花黃精 (*P. cvrtonema* Hua) 之根或莖；仙鶴草係指薔薇科 (*Rosaceae*) 多年生草本植物仙鶴草 (*Agrostis allosa* Ledeb) 全草、根或芽。熟地黃係指玄參科 (*Scrophulariaceae*) 多年生草本植物地黃 (*Rehmannia glutinosa* (Gaertn.) Libosch) 經

蒸製後的塊狀根。

在傳統中草藥的使用中，藥材自天然植物摘取後，通常會經過處理，以利後續儲存。例如，熟地黃係由生地黃（或簡稱地黃）炮製而得。所謂炮製，是指藥材根據醫療、調製及製劑之需要，經過加工處理的方法，其主要目的包括：（1）降低或清除中藥的毒性及副作用；（2）增強中藥功效；（3）轉變藥物性能；（4）清潔藥材，提高藥物的純度；（5）利於貯藏，保存藥效；以及（6）矯味、矯臭及賦色。

相同地，本發明所使的其他藥材也可經適當的步驟而處理。例如，女貞子及黃精通常會以加渾（亦即，將藥物迅速放入沸水中，經短暫加熱後，立即取出的方法）或蒸（利用水蒸氣或隔水加熱藥物的方法）之方式處理，之後將其乾燥以利儲存。此外，仙鶴草通常是以曬乾之方式而處理。

無須特別教示，上述之藥材處理步驟係為在此技藝中之人士所熟知，並且也涵蓋於本發明之範疇內。在本發明之說明中，藥材係可以包括，但並不限於，上述步驟而處理特定植物部位所得者，或係得自傳統民間或中草藥店之藥材。

一般而言，中草藥都是以溶劑萃取法提取其中的有效成份，此為最常見以及最常用的方法，而其中，水、甲醇、乙醇或丙酮是較常被使用的萃取溶劑。這些溶劑之特徵係在於它們的高極性。極性是分子的一種物理性質，分子極性的強弱，係由分子的結構而決定，並可用偶極矩及介電常數來比較。

上述溶劑中，水是高極性溶劑，其介電常數約為 80，對於中草藥植物細胞的穿透力大，但由於分子極性強且能形成氫鍵，因而沸點高、不易濃縮；此外，水萃取物具有易發霉之缺點。甲醇、乙醇及丙酮是屬於親水性之溶劑，其特徵為極性較大，與水能混溶，其介電常

數分別約為 31.2、26.0 及 21.5；此類溶劑對中草藥植物細胞的穿透力強，分子極性比水小，沸點也比水低。至於親脂性之溶劑係指與水不能混溶、或混溶性低之溶劑，例如，石油醚（介電常數約為 1.8）、苯（介電常數約為 2.3）、乙醚（介電常數約為 4.3）、氯仿（介電常數約為 5.2）、乙酸乙酯（介電常數約為 6.1）等，對中草藥植物細胞的穿透力弱，沸點低。

不同於先前技術中所使用的高極性溶劑（例如，水），本發明係使用低極性之溶劑作為萃取溶劑，以萃取女貞子、黃精、仙鶴草、熟地黃或其混合物中抗病毒之有效成份。較佳地，在本發明之中草藥中，女貞子係指女貞之果實部位；黃精（包括，但並不限於黃精、滇黃精或多花黃精）係使用其根或莖部位；仙鶴草係使用其全草、根或芽部位；熟地黃係生地黃經蒸製後的塊狀根。上述一種或多種中草藥材之混合物，也是在本發明的範疇內。

因此，本發明之主要形態係提供一種具有抗病毒活性之中草藥萃取物，係藉由將包括磨碎的女貞子、黃精、仙鶴草、熟地黃或上述材料之混合物，以至少一種低極性之溶劑萃取而製成。

為了達成較佳的萃取效果，在進行本發明之萃取步驟前，可將上述一種或多種中草藥材以搗碎、研磨、切碎等物理方式而儘可能使其變為較小顆粒，較佳是以研磨的方式進行，更佳是將上述一種或多種中草藥材研磨成粉末狀，以利後續之萃取。

在本發明的內容中，名詞“低極性”溶劑之定義係指介電常數約為 10 以下之溶劑，適合的例子包括，但並不限於，乙酸乙酯、二氯甲烷、三氯甲烷、四氯甲烷、環己烷、正己烷、正丁醇乙醚、苯或其混合物。

在本發明的一個較佳具體實例中，低極性之溶劑係二氯甲烷、正

己烷或正丁醇。

在上述一種或多種中草藥材磨碎後，以及進行本發明之萃取步驟前，可視需要以甲醇或乙醇或其混合物而進行前萃取步驟。如上所述，雖然甲醇及乙醇是屬於親水性、高極性之溶劑（介電常數約為 26 至 31），但由於除了蛋白質、油脂及蠟之外，中草藥植物細胞中的其他成份在甲醇或乙醇中均有一定程度的溶解度，因此，使用甲醇或乙醇或其混合物進行前萃取，可有助於後續本發明以低極性溶劑之萃取。

將上述一種或多種中草藥材以低極性之溶劑萃取後，該萃取物即可加以調配作為各種廣泛之應用。然而，為了使萃取物中有效成份的純度提高，可視需要於本發明之萃取步驟後，進行各種的純化步驟。將萃取物進行純化之方法無須特別教示，且係為一般此技藝中之人士所熟知，可使用的方法包括，例如，層析法、結晶法、過濾法、沈澱法等，應視所欲達成之目的而決定。

在本發明的較佳具體實例中，上述一種或多種中草藥材在以至少一種低極性溶劑萃取之後，可進行純化之步驟，例如，利用過濾法，以移除不溶性之成份。在另一較佳具體實例中，純化步驟包括利用矽膠，以二氯甲烷/乙酸乙酯作為沖提液而進行。

本發明的另一形態係提供一種製備具有抗病毒活性之中草藥萃取物之方法，係藉由將包括磨碎的女貞子、黃精、仙鶴草、熟地黃或上述材料之混合物，以至少一種低極性之溶劑萃取而製成。視需要，可於萃取前以甲醇或乙醇或其混合物進行前萃取步驟。同樣地，在以低極性溶劑萃取之後，可將萃取物進行純化之步驟，以得到較純的有效成份。

本發明的又一形態，係提供一種活體外抗病毒活性之方法，其包

括將本發明製備之具有抗病毒活性的中草藥萃取物與病毒接觸，藉此抑制病毒之活性。

在本發明之內容中，名詞“病毒”特別是指小 RNA 病毒科 (Picornaviridae) 成員之病毒，較佳是腸病毒 (Enteroviruses)，更佳是腸病毒 71 型。

本發明製備之具有抗病毒活性的中草藥萃取物，可以純化及/或未純化的形式而使用，或較佳地，是與傳統上用於配方技藝中之載體、稀釋劑、賦形劑或佐劑一起使用。為了這個目的，它們是以習知的方式而適當地賦形成為可乳化的濃縮液（例如，作為洗手乳、洗滌劑、洗衣精、洗髮乳）、可塗佈的糊狀物（例如，作為塗料）、可直接噴灑的溶液（例如，作為噴劑）、稀釋的溶液（例如，作為飲料、健康食品）、可充填的成份（例如，作為玩具、擦拭布）、可與載劑相混的粉末、可溶解的粉末、粉塵、顆粒，以及也可包覆在適合的包覆劑中（例如，作為空氣過濾器、水濾材、口罩內容物或濾膜）。作為組合物的類型，則可根據所要的目的及主要的環境而選擇，例如，噴灑、霧化、噴撒、散播、塗佈或乳化等的施用方法。組合物也可包含另外的佐劑，例如，穩定劑、消泡劑、黏度調節劑、黏結劑或發黏劑或其他用於獲得特殊效果的配方。

本發明製備之具有抗病毒活性的中草藥萃取物，通常是以組合物的形式而使用，並可同時或連續地配合其他的物質而使用，例如，其他對抗病毒之藥物或其混合物或營養成份等，以達到增強抗病毒效果之協同活性。

視需要，也可將本發明製備之具有抗病毒活性的中草藥萃取物，調配成治療或預防病毒（較佳是腸病毒，更佳是腸病毒 71 型）之醫藥組合物，以治療或預防腸病毒感染症或重症腸病毒感染症。本發明

製備之具有抗病毒活性的中草藥萃取物，可單獨地或與醫藥上可接受的載體或賦形劑結合，以單一劑量或多劑量的形式而投藥。醫藥上可接受的載體或稀釋劑以及任何其他已知的佐劑及賦形劑，可根據傳統的技術而調配，例如，參見 Remington's Pharmaceutical Sciences，第 19 版，Gennaro 編輯，Mack 出版公司，Easton，PA（1995）。

醫藥組合物可特定地調配，以用於任何適合的投藥途徑，例如，口服、直腸、鼻、肺部、局部（包括頰以及舌下）、經皮、池內、腹膜內、陰道及非腸胃道（包括皮下、肌肉內、椎管內、靜脈內以及皮內）途徑。應瞭解的是，較佳的投藥途徑將根據一般的症狀及被治療患者的年齡、要治療症狀的特性以及所選擇的活性成份而決定。

用於口服投藥的醫藥組合物可包括固體劑量的形式，例如，膠囊、錠劑、糖衣錠、藥丸、粉末以及顆粒。適合地，它們可根據在此技藝中所熟知的方法，而與膜衣（例如，腸衣）一起製備，或者可將其調配以提供活性成份之控制釋放，例如，持續或延長的釋放。

用於口服投藥的液體劑量形式包括溶液、乳液、懸浮液、糖漿以及萬能藥。

用於非腸胃道投藥的醫藥組合物包括無菌水溶液以及非水溶液之注射溶液、分散液、懸浮液或乳液，以及使用前要再溶解於無菌注射溶液或分散液之無菌粉末。

其他適合的投藥形式包括栓劑、噴劑、軟膏、乳霜、凝膠、吸入劑、皮膚貼片、植入物等等。

本發明製備之具有抗病毒活性的中草藥萃取物之確實劑量，將根據投藥的頻率及模式、被治療的患者之性別、年齡、體重以及一般狀況、要治療的症狀之特性及嚴重性以及任何伴隨的疾病等因素而決定。

本發明將藉由以下實施例進一步詳細說明，但該等實施例僅係用於舉例說明，而非用於限定本發明之範疇。

實施例 1：女貞子萃取物之製備

將 1.5 公斤之新鮮女貞子（購自一般市場），於室溫中以乙醇進行前萃取（六次，每次 2 公升），然後將萃取物以二氯甲烷（1-2 公升）進行萃取。將萃取物通入裝有矽膠之管柱，以二氯甲烷/乙酸乙酯（10:1-1:5）作為沖提液而沖提，得到本發明之女貞子萃取物（80 克）。

實施例 2：黃精萃取物之製備

相同於實施例 1 之步驟，將等量之黃精以正己烷萃取及純化，得到本發明之黃精萃取物。

實施例 3：仙鶴草萃取物之製備

相同於實施例 1 之步驟，將等量之仙鶴草以正己烷萃取及純化，得到本發明之仙鶴草萃取物。

實施例 4：熟地黃萃取物之製備

相同於實施例 1 之步驟，將等量之熟地黃以二氯甲烷/正丁醇萃取及純化，得到本發明之熟地黃萃取物。

實施例 5：細胞培養

將橫紋肌肉瘤（Rhabdomyosarcoma；RD）細胞（得自長庚醫院病毒室）培養於含 10% 胎牛血清之 DMEM（Gibco）培養液中，置於含 5% CO₂ 之 37°C 培養箱中培養。細胞繼代培養時先以 1x 磷酸鹽緩衝溶液（PBS）清洗兩次，接著加入適量之 0.25% 胰蛋白酶-乙二胺四乙酸（trypsin-EDTA；Gibco）處理細胞，待細胞由培養皿表面脫落之後，加入含 10% 胎牛血清之 DMEM 培養液，將細胞均勻打散分置

於培養皿中，置於含 5%CO₂ 之 37°C 培養箱中繼續培養。

實施例 6：病毒培養

將腸病毒 71 型之病毒株 (Enterovirus 71/Tw/2231/98；得自長庚醫院病毒室)，以不含胎牛血清之培養液稀釋。將 RD 細胞培養於含 10%胎牛血清之 DMEM 培養液，待細胞約九分滿時，以 1x PBS 清洗一次，並加入前述稀釋之病毒液，置於含 5%CO₂ 之 35°C 培養箱中吸附 1 小時之後，加入含 2%胎牛血清之 DMEM 培養液，置於含 5%CO₂ 之 35°C 培養箱中培養。當 95%以上的細胞出現變圓脫落之細胞病變時，收集上清液，經離心、冷凍、解凍後，置於-80°C 冰箱保存。

實施例 7：毒性試驗

將實施例 5 所培養之細胞，培養於 96 孔之細胞培養盤，並與待測藥物混合 1 小時之後，再加入含 2%胎牛血清之 DMEM 培養液，置於含 5%CO₂ 之 35°C 培養箱中培養 3-4 天。判讀時加入 5%福馬林固定 1-2 小時，並以 0.1%結晶紫 (J.T. Baker) 染色 2-3 分鐘，以水沖洗後，測量 OD_{570nm} 值。

實施例 8：中和試驗

將實施例 5 所培養之細胞，培養於 96 孔之細胞培養盤，並將定量之病毒液與待測萃取物混合後，加入培養液中吸附 1 小時，再加入含 2%胎牛血清之 DMEM 培養液，置於含 5%CO₂ 之 35°C 培養箱中培養 3-4 天。判讀時加入 5%福馬林固定 1-2 小時，並以 0.1%結晶紫染色 2-3 分鐘，以水沖洗後，測量 OD_{570nm} 值。

比較例：

相同於實施例 1 之步驟，將熟地黃、仙鶴草、黃柏、黃芩及黃精，以高極性的水進行萃取。

此外，將女貞子同實施例 1 之方法，以乙醇進行前萃取之後，將

萃取物再以甲醇萃取，然後在乙酸乙酯：水（1：1）之間分層，得到有機相及水溶液相之萃取物。

將實施例 1-4 之本發明中草藥萃取物以及比較例之萃取物，如實施例 5 之方法進行中和試驗，以測定抑制病毒活性之能力。

在中和試驗中，本發明以二氯甲烷萃取之女貞子萃取物，在 0.66 毫克/毫升的濃度，對腸病毒 71 型具有 45% 的抑制效果，本發明其他以低極性溶劑萃取之萃取物，例如，熟地黃之二氯甲烷/正丁醇萃取物，在 0.1-0.25 毫克/毫升的濃度，黃精之正己烷萃取物，在 0.1-0.5 毫克/毫升的濃度，以及仙鶴草之正己烷萃取物，在 0.125-0.25 毫克/毫升的濃度，對腸病毒 71 型均具有抑制效果；相較於其他高極性溶劑之萃取物，本發明之中草藥萃取物具有明顯之抗病毒活性。此外，相較於前開美國專利之先前技術，係以水作為溶劑而萃取，本發明亦以水萃取女貞子作為比較例，結果，女貞子水溶性萃取物對於腸病毒 71 型並無抑制作用。

此外，在毒性試驗中，本發明之女貞子萃取物對 RD 細胞的百分之五十致死劑量（ LC_{50} ）為 0.247 毫克/毫升，亦較其他萃取物顯示更高之耐受性。

由上述實驗結果可知，本發明製備之中草藥萃取物可有效對抗腸病毒，特別是腸病毒 71 型，因此，將該等中草藥萃取物應用於例如，空氣濾清器、濾膜、口罩、洗手乳、水濾材、塗料、擦拭布等，可將病毒吸附於其上，一方面將病毒阻隔於前述材料上，避免病毒與人體接觸而感染，另一方面，具有抗病毒活性之材料可將吸附於其上之病毒去活化，使病毒失去感染力，藉此可杜絕病毒之傳播途徑，對於病毒傳播之防治工作，將有極大之助益。因此，本發明實已具備產業利用性。

雖然本發明已以較佳實施例揭露如上，然其並非用以限定本發明，任何熟悉此技藝者，在不脫離本發明之精神和範圍內，當可作各種之更動與潤飾，因此，本發明之保護範圍，當視後附之申請專利範圍所界定者為準。

拾、申請專利範圍：

1. 一種具有抗病毒活性之中草藥萃取物，係藉由將包括磨碎的女貞子、黃精、仙鶴草、熟地黃或上述材料之混合物，以至少一種低極性之溶劑萃取而製成。

2. 如申請專利範圍第 1 項之中草藥萃取物，其中女貞子係木樨科 (Oleaceae) 植物女貞 (*Ligustrum lucidum* Ait.) 之果實。

3. 如申請專利範圍第 1 項之中草藥萃取物，其中黃精係包括百合科 (Liliaceae) 植物黃精 (*Polygonatum sibiricum* Red)、滇黃精 (*P. kingianum* Coll.et Hemsl) 或多花黃精 (*P. cvrtonema* Hua) 之根或莖。

4. 如申請專利範圍第 1 項之中草藥萃取物，其中仙鶴草係薔薇科 (Rosaceae) 多年生草本植物仙鶴草 (*Agrolmonia allosa* Ledeb) 之全草、根或芽。

5. 如申請專利範圍第 1 項之中草藥萃取物，其中熟地黃係玄參科 (Scrophulariaceae) 多年生草本植物地黃 (*Rehmannia glutinosa* (Gaertn.) Libosch) 經蒸製後的塊狀根。

6. 如申請專利範圍第 1 項之中草藥萃取物，在該萃取步驟之前，可視需要以選擇自由甲醇及乙醇所組成的族群中之溶劑進行前萃取。

7. 如申請專利範圍第 1 項之中草藥萃取物，在該萃取步驟之後，更包括一純化步驟。

8. 如申請專利範圍第 7 項之中草藥萃取物，其中該純化步驟包括以矽膠進行純化。

9. 如申請專利範圍第 8 項之中草藥萃取物，其中該純化步驟係以二氯甲烷/乙酸乙酯沖提而進行。

10. 如申請專利範圍第 1 項之中草藥萃取物，其中該低極性之溶劑包括介電常數約為 10 以下之溶劑。

11. 如申請專利範圍第 10 項之中草藥萃取物，其中該低極性之溶劑包

括乙酸乙酯、二氯甲烷、三氯甲烷、四氯甲烷、環己烷、正己烷、正丁醇、乙醚或苯。

12. 如申請專利範圍第 11 項之中草藥萃取物，其中該低極性之溶劑係二氯甲烷、正己烷或正丁醇。

13. 如申請專利範圍第 1 項之中草藥萃取物，其中該病毒係小 RNA 病毒科 (Picornaviridae) 之病毒。

14. 如申請專利範圍第 13 項之中草藥萃取物，其中該病毒係腸病毒 (Enteroviruses)。

15. 如申請專利範圍第 14 項之中草藥萃取物，其中該病毒係腸病毒 71 型。

16. 一種製備具有抗病毒活性之中草藥萃取物之方法，係藉由將包括磨碎的女貞子、黃精、仙鶴草、熟地黃或上述材料之混合物，以至少一種低極性之溶劑萃取。

17. 如申請專利範圍第 16 項之方法，其中女貞子係木樨科 (Oleaceae) 植物女貞 (*Ligustrum lucidum* Ait.) 之果實。

18. 如申請專利範圍第 16 項之方法，其中黃精係包括百合科 (Liliaceae) 植物黃精 (*Polygonatum sibiricum* Red)、滇黃精 (*P. kingianum* Coll. et Hemsl) 或多花黃精 (*P. cvrtonema* Hua) 之根或莖。

19. 如申請專利範圍第 16 項之方法，其中仙鶴草係薔薇科 (Rosaceae) 多年生草本植物仙鶴草 (*Agrilmonia allosa* Ledeb) 之全草、根或芽。

20. 如申請專利範圍第 16 項之方法，其中熟地黃係玄參科 (Scrophulariaceae) 多年生草本植物地黃 (*Rehmannia glutinosa* (Gaertn.) Libosch) 經蒸製後的塊狀根。

21. 如申請專利範圍第 16 項之方法，在該萃取步驟之前，可視需要以選擇自由甲醇及乙醇所組成的族群中之溶劑進行前萃取。

22. 如申請專利範圍第 16 項之方法，在該萃取步驟之後，更包括一純

化步驟。

23. 如申請專利範圍第 22 項之方法，其中該純化步驟包括以矽膠進行純化。

24. 如申請專利範圍第 23 項之方法，其中該純化步驟係以二氯甲烷/乙酸乙酯沖提而進行。

25. 如申請專利範圍第 16 項之方法，其中該低極性之溶劑包括介電常數約為 10 以下之溶劑。

26. 如申請專利範圍第 25 項之方法，其中該低極性之溶劑包括乙酸乙酯、二氯甲烷、三氯甲烷、四氯甲烷、環己烷、正己烷、正丁醇、乙醚或苯。

27. 如申請專利範圍第 26 項之方法，其中該低極性之溶劑係二氯甲烷、正己烷或正丁醇。

28. 如申請專利範圍第 16 項之方法，其中該病毒係小 RNA 病毒科之病毒。

29. 如申請專利範圍第 28 項之方法，其中該病毒係腸病毒。

30. 如申請專利範圍第 29 項之方法，其中該病毒係腸病毒 71 型。

31. 一種活體外抗病毒活性之方法，其包括將申請專利範圍第 1 至 12 項中任一項之中草藥萃取物與病毒接觸，藉此抑制病毒之活性。

32. 如申請專利範圍第 31 項之方法，其中該病毒係小 RNA 病毒科之病毒。

33. 如申請專利範圍第 32 項之方法，其中該病毒係腸病毒。

34. 如申請專利範圍第 33 項之方法，其中該病毒係腸病毒 71 型。